

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number : 60-156614
 (43) Date of publication of application : 16.08.1985

(51) Int.Cl. A61K 31/35
 // C07D311/62

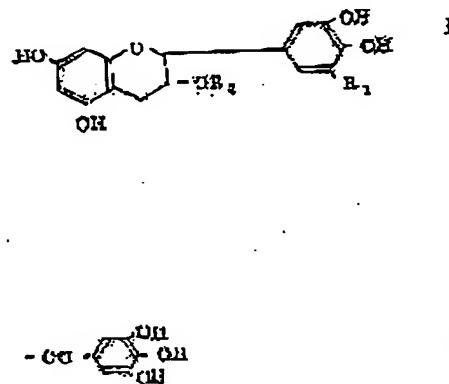
(21) Application number : 59-010980
 (22) Date of filing : 26.01.1984

(71) Applicant : MITSUI NORIN KK
 (72) Inventor : HARA MASAHICO
 OOYA MAYUMI

(54) INHIBITOR FOR RISE IN CHOLESTEROL

(57) Abstract:

PURPOSE: An inhibitor for rise in cholesterol containing green tea catechin as an active constituent.
 CONSTITUTION: An inhibitor for rise in cholesterol containing green tea catechin of formula I (R1 is H or OH; R2 is H or formula II) contained in green tea raw leaves or dried green tea of middle grade in an amount of about 10W25% as an active constituent. It is confirmed that the green tea catechin has powerful effect on only inhibition of rise in blood cholesterol but also inhibition of accumulation of lipid, particularly cholesterol, in the kidney. Preferably, the inhibitor is usually administered orally in about 2W5g daily dose.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

① 日本国特許庁 (JP) ② 特許出願公開
 ② 公開特許公報 (A) 昭60-156614

①Int.Cl.
 A 61 K 31/35
 // C 07 D 311/62

識別記号 ADN 厅内整理番号
 7330-4C
 6640-4C

②公開 昭和60年(1985)8月16日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全6頁)

③発明の名称 コレステロール上昇抑制剤

④特願 昭59-10980
 ⑤出願 昭59(1984)1月26日

⑥発明者 原征彦 静岡市駒形通5-11-8

⑦発明者 大矢真弓 静岡市遠藤新田392-10

⑧出願人 三井農林株式会社 東京都中央区日本橋室町2丁目1番地1

⑨代理人 弁理士 久保田藤郎

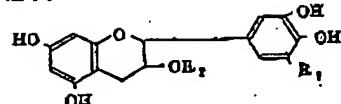
明細書

1. 発明の名称

コレステロール上昇抑制剤

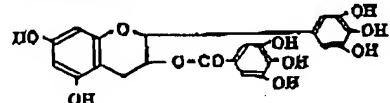
2. 特許請求の範囲

1. 一般式



(式中、R₁はHあるいはOHを、R₂はHあるいは-CO-C(=O)-OHを示す。)で表わされる茶カテキン類を有効成分とするコレステロール上昇抑制剤。

2. 茶カテキン類が式



で表わされる(-)-エピガロカテキンガレートである。特許請求の範囲第1項記載のコレステロール上昇抑制剤。

3. 発明の詳細な説明

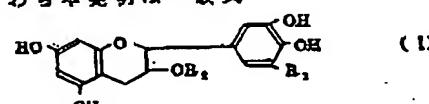
本発明はコレステロール上昇抑制剤に関する。

血中および肝臓中における脂質、特に血中コレステロールの増加による血管老化に伴なつて惹起される各種心臓疾患、脳疾患等は近年重大問題となつており、これらの症状を予防する薬剤の出現が求められている。

本発明者は茶カテキン類を製造する方法を開発し、既に茶葉中より効率よく茶カテキン類を採取することに成功し、併せてその生理活性についても研究を進め、いくつかの知見を得た。たとえばラードに対する抗酸化性、天然着色料に対する退色防止効果、天然歯磨の劣化防止効果、魚類老廃物の抑揚効果、細菌類に対する静菌効果等である。

その後、さらに研究を経た結果、茶カテキン類がすぐれたコレステロール上昇抑制作用を有することを見出し、本発明を完成するに至つた。

すなわち本発明は一般式



(式中、R₁は且あるいはOHを、R₂は且あるいは-CO--OHを示す。)で表わされる茶カテキン類を有効成分とするコレステロール上昇抑制剤である。

茶カテキン類とは、一般に茶タンニンと呼ばれているものの主成分であり、生茶葉あるいは乾茶粒物中に10~25%程度含まれ、茶の淡味乃至苦味を形成する成分である。なお、紅茶の場合はこれらカテキン類が酸化縮合した形で存在している。

茶カテキン類は、本発明者らの開発した方法(特許昭58-94069号、図58-120963号)によつて製造することができ、通常次の4種類に分離される。

①エピカテキン(式中、R₁=H, R₂=H)(以下、EGCと略す。)

②エピガロカテキン(式中、R₁=OH, R₂=H)(以下、EGCと略す。)

③エピカテキンガレート(式中、R₁=H, R₂=-CO--OH)(以下、EGGと略す。)

15.0g、コレステロールを1.0%増加した対照群を第1群とし、これに対し、1.0%および2.0%茶カテキンを添加した群を第2群、第3群とする。飼料組成は第1表に示したとおりである。

飼育は、室温24±1°C、相対湿度45~55%、6時より18時まで照明、18時より6時まで消炎の空調動物室で一匹ずつステンレス製懸垂飼育籠に入れ、飼料と水は自由に採取させて4週間飼育し、その間の成長、飼料摂取量を調べた。飼料は粉末であり、皿皿を有する肉豚ガラス製カッターに入れて与えた。

4週間飼育後、12時間飢餓にし、あらかじめヘペリン(1000単位/20g)溶液を添加した注射器を用いて心臓より採血し、遠心分離(3000rpm×20min)してプラズマを得た。各検器は毎回を調定し、肝臓は皮脂酸塩酸化して実験に供した。

プラズマ中の成分のうちヘマトクリットは毛細管によるミクロヘマトクリット法、ヘモグロビンはシアンソトヘモグロビン法、グルコースは酵素

特開昭60-156614(2)
④エピガロカテキンガレート(式中、R₁=OH、
R₂=-CO--OH)(以下、EGGと略す。)

これら茶カテキン類のうちではEGGがほぼ半量を占める。これら茶カテキン類は水溶性であるが、予め少量のエタノールに溶解させることによって容易に油脂等と混合させることができる。

茶カテキン類が血中コレステロールの上昇を抑制するばかりでなく、肝臓中脂質(特にコレステロール)の蓄積を抑制する強い効果を有していることを以下の実験によつて確認した。なお、以下において粗カテキンとは上記4種類の茶カテキン類の混合物を意味する。

実験例1

1群6匹のistar系雄性ラット(3週令体重約40g)3群を用い、25%カゼインを含む基本飼料を与え3~4日飼育し、体重55~60gに達したものと1匹ずつステンレス製懸垂飼育籠に移して実験に供した。

実験群は強制的に血中コレステロールを増加させる為に、シューコロースおよびエビラードを各々

強力によつて定量した。総コレステロール量はZolz-Henry法により、トリグリセライトおよびFree-HDL-, LDL-コレステロールは酵素法により定量した。

肝臓中脂質はFolch法により抽出し、肝臓中コレステロールおよびトリグリセライトはプラズマと同様にして定量した。

第1表 飼料組成

成 分	組成(%)		
	第1群	第2群	第3群
カゼイン	25.0	25.0	25.0
α-デンプン	35.84	34.9	33.9
シューコロース	15.0	15.0	15.0
ラード	15.0	15.0	15.0
コーン油	2.0	2.0	2.0
塩混合	5.0	5.0	5.0
ビタミン混合	1.0	1.0	1.0
塩化コリン	0.1	0.1	0.1
コレステロール	1.0	1.0	1.0
カフェイン	0.06	—	—
粗カテキン	—	1.0	2.0

特開昭69-156614(3)

4週間を経じて各群とも飼料摂取、成長共に正常であつた。プラズマ中成分の測定結果を第2表に、肝臓中成分の測定結果を第3表に示す。

第2表

	第1群	第2群	第3群
ヘモクリット(%)	44.0±1.0	46.0±0.8	45.4±0.5
グルコース(mg/dl)	155.6±9.9	174.0±10.6	145.2±4.1
総コレステロール(mg/dl)	141.7±6.5 ^{a)}	111.7±35 ^{b)}	109.9±6.0 ^{b)}
Free-コレステロール(mg/dl)	26.15±2.81 ^{a)}	20.82±1.38 ^{a)}	21.48±1.78 ^{a)}
HDL-コレステロール(mg/dl)	115.5±7.8 ^{a)}	90.87±4.06 ^{b)}	88.42±4.84 ^{b)}
HDL-コレステロール(mg/dl)	46.83±7.72 ^{a)}	47.06±1.24 ^{a)}	49.02±4.58 ^{a)}
LDL-コレステロール(mg/dl)	78.50±4.85 ^{a)}	54.76±3.21 ^{b)}	50.89±3.19 ^{b)}

a), b) p = 0.05における有意差表示

第3表

	第1群	第2群	第3群
総脂質(%)	22.50±1.16 ^{a)}	14.94±0.62 ^{b)}	10.38±0.21 ^{c)}
総トリグリセライド(mg)	764±54 ^{a)}	562±33 ^{b)}	266±20 ^{c)}
トリグリセライド(mg/肝臓)	77.6±4.6 ^{a)}	59.8±3.8 ^{b)}	33.9±1.3 ^{c)}
総コレステロール(mg)	288±19 ^{a)}	218±17 ^{b)}	149±21 ^{c)}
コレステロール(mg/肝臓)	28.6±1.1 ^{a)}	22.6±1.7 ^{b)}	18.4±1.9 ^{b)}

a), b), c) は p = 0.05における有意差表示

プラズマにおいて、ヘモクリット、グルコース値は3群とも正常値を示した。総コレステロール量は、対象群に対して粗カテキンを1.0%・2.0%添加することによってコレステロール上昇が抑制されていることがわかる。また、コレステロールの存在形態においては、Free-およびHDL-コレステロール量に差はなく、体内へのコレステロール蓄積に最も関与していると思われるLDL-コレステロール量が対象群では多いが、粗カテキン添加によって著しく抑制されている。

肝臓中の總脂質の割合は、解剖時直観に換算して対象群が22.5%と非常に高いのに対し、粗カテキン添加によって11.9%，10.4%と頭著に低くなっている。トリグリセライド、コレステロール量においても粗カテキン添加によって対象群に比べて著しく低下した。

実験例2

1群6匹のWistar系雄性ラット（3週合体重約40g）4群を用い、実験例1と同様な条件下で4週間飼育し、実験に供した。

実験群は2.5%カゼインを含む基本飼料を与える群本食群を第1群とし、強制的に血中コレステロールを増加させる為にシーグロースおよびラードを各々1.5.0%，コレステロール1.0%、さらにNaコレート0.2%を添加した対象群を第2群とする。対象群に対し、EGCGを0.5%および1.0%添加した群を第3群、第4群とする。飼料組成は第4表に示す。

第4表 飼料組成

成分	組成(%)			
	第1群	第2群	第3群	第4群
カゼイン	25.0	25.0	25.0	25.0
α-チトサン	63.9	35.7	35.2	34.7
シーグロース	—	15.0	15.0	15.0
ラード	—	15.0	15.0	15.0
コーン油	5.0	2.0	2.0	2.0
塩混合	5.0	5.0	5.0	5.0
ビタミン混合	1.0	1.0	1.0	1.0
塩化コリン	0.1	0.1	0.1	0.1
コレステロール	—	1.0	1.0	1.0
Naコレート	—	0.2	0.2	0.2
粗カテキン	—	—	—	—
EGCG	—	—	0.5	1.0

4週間を経じて各群とも飼料摂取、成長共に正常であつた。プラズマ中成分の測定結果を第5表に、肝臓中成分の測定結果を第6表に示す。

特許昭60-156614(4)

解 5 表

	第 1 群	第 2 群	第 3 群	第 4 群
ヘマトクリット (%)	46.6±1.6	44.6±1.0	43.9±0.8	42.7±0.6
ヘモグロビン (g/dl)	14.65±0.19	13.23±0.10	13.47±0.14	12.24±0.18 ^{a)}
グルニース (mg/dl)	17.66±2.6 ^{a)}	17.85±7.3 ^{a)}	18.27±7.3 ^{a)}	18.56±5.3 ^{a)}
総コレステロール (mg/dl)	9.338±4.89 ^{a)}	22.27±14.3 ^{a)}	14.28±4.3 ^{c)}	14.43±8.6 ^{a)}
LDL-コレステロール (mg/dl)	26.69±1.29	39.67±1.72	28.29±1.47	22.57±1.29
HDL-コレステロール ^{a)}	6.658±3.73	18.40±1.32	11.46±4.2	9.175±7.50
HDL-コレステロール ^{b)}	5.146±2.94 ^{b)}	21.56±1.45 ^{b)}	31.06±1.45 ^{c)}	29.70±1.0 ^{f)}
LDL-コレステロール ^{a)}	11.30±0.83 ^{a)}	16.38±1.03 ^{b)}	8.527±4.60 ^{c)}	5.394±4.83 ^{d)}
LDL-コレステロール ^{b)}	11.627±7.71 ^{b)}	9.206±8.01 ^{b)}	7.412±6.05 ^{b)}	7.189±8.87 ^{b)}

a), b), c), d) は p = 0.05 における有意差表示

解 6 表

	第 1 群	第 2 群	第 3 群	第 4 群
肝臓 脂 (%)	5.20±0.13 ^{a)}	3.295±0.69 ^{b)}	2.873±0.81 ^{c)}	2.359±0.57 ^{d)}
皮脂トリグリセラトイド (mg)	880±64 ^{a)}	1929±49 ^{b)}	1544±88 ^{c)}	1046±77 ^{d)}
トリグリセラトイド(皮脂)	11.7±0.6 ^{a)}	16.1±3 ^{b)}	12.8±3 ^{c)}	9.84±8.6 ^{d)}
総コレステロール (mg)	3.62±1.5 ^{a)}	13.18±3.1 ^{b)}	10.72±3.0 ^{c)}	8.15
コレステロール (mg)	4.83±0.11 ^{a)}	10.65±3 ^{b)}	8.43±2.2 ^{c)}	7.14

a), b), c), d) は p = 0.05 における有意差表示

プラズマにおいて、ヘマトクリット、ヘモグロビンおよびグルニースは各群とも正常値を示した。総コレステロール値は、基本食群が 9.3 mg/dl であったに対し、対象群は 22.4 mg/dl と増大しているが、0.5 %, 1.0 % EGCG 添加によって 14.3 mg/dl, 11.4 mg/dl とコレステロールの増加を抑制した。特に 1.0 % EGCG を添加した第 4 群は基本食群と石鹼を差ではなく、強制的にコレステロール値を上昇させる食餌の影響を完全に抑制した。コレステロールの存在形態も、基本食群に対し対象群は HDL-コレステロールが少なく、LDL-コレステロールが多いが、これに対し第 3 群、第 4 群では HDL-コレステロールが多くなり LDL-コレステロールが少なくなった。

肝臓中の總脂肪の割合は、前回時臓質に換算して基本群 5.2 % に対し対象群は 3.3.0 % と極めて増大したが、0.5 %, 1.0 % EGCG 添加によって 2.8.7 %, 2.4.0 % と著しく減少した。トリグリセラトイド、コレステロール量においても、EGCG 添加によって対象群に比べて増加を抑制した。

尚、実験例 1, 2 を通じて第 4 週目の血中脂肪量を Foscd 法により測定したところ、いずれも対象群に比べ粗カゼインあるいは EGCG 添加群の方が大きな値を示した。

実験例 3

1 群 6 匹の Wistar 系雄性ラット (3 週令体重約 40 g) 2 匹を用い、実験例 1 と同様な条件下で 4 週間飼育し、実験に供した。

実験例 1, 2 を通じて血中および肝臓中の脂肪、特にコレステロールを強制的に増加させる餌料を与えても、粗カゼイン、EGCG の添加によってその増加を抑制することがわかつた。しかし、コレステロールは細胞膜構成成分、各種ホルモンの運搬者として貢献であり、正常値に保つ必要がある。そこで、今回の実験では EGCG はコレステロール強制添加食に添加した時にはコレステロール値を下げるが、基本食に添加した時には影響しないことを確かめる。

従つて、実験群は 2.5 % カゼインを含む基本餌料を与える基本食群を第 1 群とし、これに対して

1.0 % EGGs 投与した群を第2群とする。飼料組成は第7表に示す。

第7表

成 分	組 成 (%)	
	第1群	第2群
カゼイン	25.0	25.0
α-デンプン	63.9	62.9
コーン油	5.0	5.0
塩混合	5.0	5.0
ビタミン混合	1.0	1.0
炭化コリン	0.1	0.1
EGG _s	—	1.0

2週間を経て2群とも飼料摂取、成長共に正常であった。プラズマ中成分の測定結果を第8表に、肝臓中成分の測定結果を第9表に示す。



プラズマにおいて、ヘマトクリット、ヘモグロビンおよびグルコースは2群とも正常値を示した。総コレステロール量も若木食群が 9.5 mg/dl、第2群が 10.3 mg/dl と有効な差は見られず、その他の成分でも差は見られなかつた。

肝臓中の脂質質の割合は、解剖時脂肪に換算して若木食群(第1群) 5.4 % に対し、第2群も 4.6 % と有効な差はなく、コレステロール、トリグリセライドにおいても差はなかつた。

以上の実験例1、2および3に上つて、茶カテキン類(特に EGG_s)はラットに脂質、特にコレステロールを強制的に増加させる飼料を与えた時、血中および肝臓中の脂質、特にコレステロールの増加を図るに抑制することがわかつた。さらに、若木食を与えた時には、血中および肝臓中の体成分として取扱をコレステロールに影響を与えないことも明らかとなつた。

急性毒性試験の結果を以下に示す。

ICR系マウス雄5週令化 EGG_sを経口投与した場合、1週間後の LD₅₀ は 231.4 mg/kg であつた。さら

特許昭60-156614(5)

第8表

	第1群	第2群
ヘマトクリット (%)	45.2 ± 0.7 ^{a)}	44.4 ± 0.5 ^{a)}
ヘモグロビン (g/dl)	14.07 ± 0.12 ^{a)}	13.83 ± 0.28 ^{a)}
グルコース (mg/dl)	166 ± 5 ^{a)}	170 ± 1 ^{a)}
総コレステロール (mg/dl)	95.1 ± 4.1 ^{a)}	103.5 ± 5.3 ^{a)}
Free-コレステロール (mg/dl)	30.2 ± 1.7 ^{a)}	31.5 ± 1.4 ^{a)}
総コレステロール-Free-コレステロール (mg/dl)	64.9 ± 2.5 ^{a)}	72.0 ± 4.2 ^{a)}
HDL-コレステロール (mg/dl)	5.56 ± 2.9 ^{a)}	6.17 ± 2.1 ^{a)}
LDL-コレステロール (mg/dl)	14.2 ± 1.8 ^{a)}	17.2 ± 1.4 ^{a)}
トリグリセライド (mg/dl)	16.4 ± 2.2 ^{a)}	16.5 ± 2.3 ^{a)}

a) (± p = 0.05における有意差表示)

第9表

	第1群	第2群
総脂質 (%)	5.35 ± 0.19 ^{a)}	4.58 ± 0.05 ^{a)}
総トリグリセライド (mg)	91.6 ± 8.7 ^{a)}	72.7 ± 4.0 ^{a)}
トリグリセライド (モダル性)	11.7 ± 1.0 ^{a)}	8.9 ± 0.6 ^{a)}
コレステロール (mg)	35.4 ± 1.4 ^{a)}	36.8 ± 1.2 ^{a)}
コレステロール (モダル性)	4.55 ± 0.15 ^{a)}	4.36 ± 0.07 ^{a)}

a) (± p = 0.05における有意差表示)

ICR系マウス雄5週令化 EGG_sを経口投与した場合、1週間後の LD₅₀ は 150 mg/kg であつた。

本発明のコレステロール上昇抑制剤を人体に投与する場合は、通常 1 日量 2~5 g 程度を経口的に服用することが好ましく、そのままあるいは適宜着脱剤を加えて着脱し吸収として服用してもよい。さらに、錠剤またはカプセル剤としてもよい。即ち乳糖、ぶどう糖等の賦形剤、でんぶん糊液、CMO 痘等の結合剤、でんぶん、糊精セルロース等の崩壊剤、ステアリン酸マグネシウム、タルク等の滑潤剤等を用いて錠剤またはカプセル剤を製造することができる。また、錠剤には必要に応じて被衣を施してもよい。

以下に製剤を実施例として示すが、製剤はこれのみに限定されるものではない。

実施例 製剤

粗カテキン生たん EGG _s	100 mg
粗質無水ケイ酸	80 mg
糊精セルロース	140 mg
乳糖	適量

特許昭50-156614(6)

ステアリングマグネシウム 27

上記粗成形を溶接に従い1段に成形する

特許出願人 三井農林株式会社

代理人 弁理士 久保田 勝郎

